

Verfahren zur besseren und schonenden Freisetzung wertgebender Inhaltsstoffe aus Weinbeeren, ein daraus gewonnener Most sowie daraus erzeugter Wein und eine Einrichtung zur Durchführung der Elektroporation

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur besseren und schonenden Freisetzung wertgebender Inhaltsstoffe aus Weinbeeren, ein mit dem Verfahren prozessierter Most und den daraus erzeugten Wein sowie eine Einrichtung zur Durchführung des Verfahrens der Elektroporation.

Unter Elektroporation wird die Zellöffnung mittels eines elektrischen Feldes, d.h. die porenförmige Öffnung der Zellwand einer biologischen Zelle verstanden. Diese porenförmige Öffnung einer Zellwand ist bei Einwirkung eines schwächeren elektrischen Feldes reversibel, d.h. eine solche Pore verschließt sich nach der Einwirkung wieder, bei stärkeren elektrischen Feldern ist sie irreversibel, d.h. eine solche Pore bleibt auch nach der Einwirkung geöffnet/aufgerissen. Das Verfahren der Elektroporation wurde erstmalig im Jahr 1960 in der Patentschrift DP 123 741 vorgestellt. Die Elektroporation alleine ist eine nicht-thermische Öffnung der Zellwände. Mit ihr wird die schonende Freisetzung der wertgebenden Zellinhaltsstoffe erreicht.

Für die Lebensmittelindustrie ist die Elektroporation zum Aufschluss von biologischen Zellen von Interesse. Einerseits wegen des schonenden Aufschlusses der Zellen und andererseits ist die Elektroporation ein energiesparender Verfahrensschritt. In den herkömmlichen Aufschluss-/Erschließungsverfahren wird das pflanzliche Prozessgut unter Aufwendung thermischer und damit teurer Energie erwärmt, wodurch die Zellwände bei hinreichender thermischer Einwirkung permeabel werden, aber dabei auch manche ernährungsphysiologisch bedeutsamen Inhaltsstoffe thermisch geschädigt/zersetzt und/oder unerwünschte Inhaltsstoffe mobilisiert werden.

In anderen herkömmlichen Verfahren wird das pflanzliche Prozessgut mechanisch zu Brei zerrieben, das aber das anschließende Abpressen

- 2 -

schwierig gestaltet und zu einem Presskuchen mit geringem Festanteil führt, bzw. einen hohen Verlust an Fruchtsaft/Most etc. mit sich bringt.

Zunehmend kommen auch Enzyme zum Einsatz, die die Zellmembranen öffnen, jedoch den Nachteil haben, dass sie nur eingeschränkt zugelassen und kostspielig sind, der Fruchtsaft/Most etc. geschmacklich verändert wird und z.B. daraus hergestellter Fruchtsaft oder Wein mangel- oder fehlerhaft ist.

In vielen Bereichen werden Inhaltsstoffe mit Äthylalkohol erschlossen. Der Alkohol löst die aus Fettmolekülen bestehenden Zellwände auf und setzt so die wertgebenden Inhaltsstoffe frei.

Alle Erschließungs-/Aufschlussverfahren von biologischen Zellen werden primär an der Unbedenklichkeit der damit gewonnenen Produkte und wirtschaftlich an den Kosten für das Verfahren gemessen.

In der Saft-/Mostwirtschaft werden sehr ausgeklügelte Verfahren zum Erschließen der biologischen Zellsubstanzen angewendet. Das trifft insbesondere auf die Weinerzeugung zu, wo die Verfahren zur Weiß- und Rotweinerzeugung ganz erhebliche Eigenheiten haben. Der Ausbau zu Weinen ist abhängig von den Substanzen die in den Mosten sind, sie sind Basis für die bei Ausbau erreichte Qualität.

In der klassischen Weinbereitung werden die gelesenen Weintrauben zur Mostgewinnung entbeert, in der Fachsprache entrappt, und dann die Beeren eingemaischt. Abhängig von der geforderten Qualität des Weines schließt sich eine z. B. 10 Tage dauernde Maischegärung, oft in speziellen, auf bis zu 38°C erwärmten doppelwandigen Behältern an, in der die alkoholische Gärung einsetzt. Der in der Konzentration zunehmende Alkoholgehalt wird für die Auflösung der Zellmembranen in der Beerenhaut benutzt. Es kommt so zum Auszug der Inhaltsstoffe aus den Zellen, wie Farb- und Gerbstoffe, Aromastoffe sowie andere wasser- und alkohollösliche Substanzen, auch pflanzenspezifische Eiweiße. Der

- 3 -

Auszug der Gerbstoffe verläuft am langsamsten und ist in der Regel nach 10 Tagen noch nicht abgeschlossen.

Die Maischegärung wird vorrangig für die Herstellung von hochwertigen Rotweinen eingesetzt, da hierfür entsprechend hochwertiges Lesegut zur Verfügung steht. Allerdings sind dabei die Heiz- und Lagerkosten ein gewichtiger, nicht vernachlässigbarer Kostenfaktor. Bei minderer roter Traubenqualität oder zur Bereitung von Massenrotweinen kommt häufig die Maischeerhitzung etwa über Wärmetauscher zum Zuge. Die Maische wird damit für kurze Zeit, beispielsweise für 1 Minute auf 85 °C erhitzt. Pro Tonne Maische werden als Orientierung etwa 10 l Heizöl für die Dampferzeugung benötigt. Zwar erfolgt bei der Maischeerhitzung eine gute Farbstoffausbeute, wegen der wässrig-thermischen Extraktionsbedingungen werden jedoch insbesondere die Gerbstoffe weniger stark extrahiert. Damit werden eher glatte, früh trinkbare und wenig lagerfähige Weine ohne große Tiefe und Länge erzeugt. Das Auftreten eines Kocharomas ist gelegentlich zu beobachten.

Weißer Weinbeeren werden in der Regel unmittelbar nach dem Einmaischen gegebenenfalls nach kurzer Standzeit abgepresst, so dass die Inhaltsstoffe der Beerenhaut nicht in größerem Umfang in den Most gelangen, sondern im Trester verbleiben. Bei sogenannten Bukettsorten ist allerdings zur Extraktion der Aromen und deren Vorstufen ein vorheriger Aufschluss der Beerenhautzellen erforderlich. In der Regel wird dies durch längere Maischestandzeit erreicht, wobei traubeneigene Enzyme und/oder zugesetzte Enzym-Präparate den Aufschluss besorgen. Auch für gerbstoffbetontere Weißweine sowie zur besseren Extraktion der zur Gärung erforderlichen Stickstoff-Substanzen usw. sind derartige längere Maischestandzeiten üblich. Risiken dabei sind das Wirken unerwünschter Enzyme/Eiweiße sowie die Entwicklung schädlicher Mikroorganismen und Hefen.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur schnelleren, besseren und schonenden Freisetzung wertgebender Inhaltsstoffe aus Weinbeeren zu entwickeln, das sich in der Qualität des aus der

- 4 -

Maische gewonnenen Mostes und in dem wiederum daraus ausgebauten Wein niederschlägt. Darüber hinaus soll eine Einrichtung vorgeschlagen werden, mit denen die irreversible Elektroporation an den Hautzellen der Weinbeeren wirksam und energiesparend durchgeführt werden kann.

Die Aufgabe wird durch die Verfahrensschritte des Anspruchs 1 gelöst. Ergebnis des Verfahrens ist nach Anspruch 6 der aus der zumindest teilweise elektroporierten Maische gewonnene Most/Saft und der daraus erzeugte Wein. Mit einer Einrichtung nach Anspruch 7 zur Erzeugung eines pulsartigen, elektrischen Feldes mit im Durchströmvolumen zumindest bereichsweise stark inhomogenem Feldverlauf, durch das die Maische zur irreversiblen Elektroporation hindurchgeströmt oder schubweise dort eingebracht wird, kann die Maische aus Weinbeeren prozessiert werden.

Das Verfahren zur besseren und schonenden Freisetzung der wertgebenden Inhaltsstoffe aus Weintrauben besteht aus folgenden Schritten: Die aus roten und/oder weißen Weintrauben gewonnene Maische wird auf einer Temperatur gehalten oder auf eine Temperatur gebracht, die zumindest oberhalb der Gefriertemperatur der Maische liegt und bis zu bei der herkömmlichen Maischeerwärmung bekannten Temperaturen eingestellt werden kann. Sie wird dann vor dem Pressvorgang zur Mostgewinnung durch eine Einrichtung gepumpt/geströmt und dort mit über dem Querschnitt des Strömungskanals reichenden gepulsten elektrischen Feldern zur irreversiblen Öffnung der Zellwände der biologischen Zellen der Weinbeerenhaut beaufschlagt. Das ist die Elektroporation. Die Pulsdauer liegt in dem Bereich von 0,5 - 3  $\mu$ s. Während der Bepulsung wird die Maische pulsartig mindestens einmal, vorzugsweise mehrmals so hohen elektrischen Feldstärken ausgesetzt, dass einerseits die Potentialdifferenz an den 7 bis 10  $\mu$ m großen Zellen der Beerenhaut mindestens 100 V beträgt, das reicht für die irreversible elektrische Poration, und andererseits wird die Grenze zur Streamerbildung, die bei etwa 1 000 kV/cm liegt, nicht erreicht. Es hat sich gezeigt, dass die spezifische Energiedosis für elektrische Zellporation bei einer Temperatur der Maische ab 10°C bis etwa 40°C zwischen 10 und 40 kJ

- 5 -

pro Kilogramm Maische liegt. Unterhalb etwa 10°C sollte sie um einen Faktor 2 bis 4 darüber eingestellt sein und oberhalb etwa 40°C um einen Faktor 2 geringer.

Danach erfährt die elektroporierte Maische eine vorgegebene Standzeit zur schnellen, schonenden und energieoptimierten Freisetzung der wertgebenden Inhaltsstoffe aus der Fruchtschale. Diese Freisetzung wird durch mindestens eine Probennahme aus der Maische mitverfolgt und die daraus gewonnenen Daten über Stoffe und jeweilige Konzentration festgehalten. Schließlich wird die elektroporierte Maische im Anschluss an die Standzeit dem Pressvorgang zur Gewinnung des Mostes ausgesetzt. Der Most ist der Beginn des eigentlichen Weinausbaus.

In den Unteransprüchen 2 bis 5 werden weitere Verfahrensschritte spezifiziert. So erfährt nach Anspruch 2 die Maische aus Weißweintruben nach der Elektroporation eine Standzeit von wenigen Minuten bis zu mehreren Stunden.

Anders bei Rotweintruben, nach Anspruch 3 erfährt da die Maische nach der Elektroporation eine Standzeit von wenigen Stunden bis mehreren Tagen.

Daraus ergibt sich, dass die elektroporierte Maische zur Mostgewinnung allerhöchstens noch einem Pressdruck wie bei der herkömmlichen Mostgewinnung ausgesetzt werden braucht, erfahrungsgemäß, durchaus ausreichend, einem 30% niedrigerem.

Zur irreversiblen Elektroporation wird die Maische entweder kontinuierlich oder schubweise durch die Einrichtung zur Elektroporation gefahren. Der kontinuierliche Durchflussbetrieb ist der üblichere.

Ausgehend von herkömmlichen Wein-Most-Gewinnungs-/ Erzeugungsanlagen in Weinkellereien, ist die Einrichtung zur Durchführung des Verfahrensschrittes der irreversiblen Elektroporation der Maische nach Anspruch 7 mit einer dielektrischen Rohrleitung, dem Strömungskanal für die Maische, mit einfach rundem oder einfach polygonalem, mindestens viereckigem Querschnitt realisiert. Beim runden Querschnitt soll die

- 6 -

Konturlinie durchgehend nach außen, konstant oder veränderlich gewölbt sein, also keine Richtungsänderung des Krümmungsradius haben. Beim polygonalen Querschnitt sollen unmittelbar benachbarte Mantel-segmentflächen nach innen einen Winkel  $\geq 90^\circ$  bilden und der Querschnitt auch nur nach außen gewölbt sein. Für den runden und polygonalen Fall ergibt das die günstigsten Strömungsverhältnisse für die Maische. In der Wand dieses Strömungskanals sind mindestens zwei Elektroden auf Abstand zueinander eingelassen. Die Elektroden sitzen versenkt oder bündig in der Wand des Strömungskanals oder ragen aus dieser Wand in den Strömungskanal.

Die gesamte Oberfläche der in den Strömungskanal ragenden blanken Elektrodenflächen bestimmt die Steuerung/Begrenzung des Stromes zwischen den Elektroden.

Der lichte Querschnitt und die Länge des Strömungskanals der Einrichtung sind so ausgelegt, dass die Maische als elektrolytische Last der Einrichtung mindestens so groß ist wie die Impedanz eines an die Einrichtung angeschlossenen Hochspannungs-Pulsgenerators. Durch diesen Tatbestand sind die Schranken für die Dimensionierung des Strömungskanals und für die exponierte Fläche der Elektroden vorgegeben.

In den Unteransprüchen 8 bis 11 ist die Einrichtung zur Elektroporation der Maische unterschiedlich spezifiziert.

Die in den Strömungskanal exponierten Stirnflächen der jeweiligen Elektroden zur Ausbildung des pulsformigen elektrischen Feldes zwischen ihnen stehen einander nach Anspruch 8 senkrecht zur Strömungsachse gegenüber und reihen sich als Elektrodenpaare unter Abstandswahrung strömungsaxial aneinander oder reihen sich unter Abstandswahrung zickzackförmig strömungsaxial ausgerichtet oder um die Strömungsachse gewunden aneinander.

Nach Anspruch 9 sind die Elektroden ringförmig und reihen sich unter Abstandswahrung coaxial zur Strömungsachse hintereinander.

Nach Anspruch 10 sind die Elektroden stiftförmig, ragen radial in den Strömungskanal und sind wie in Anspruch 8 positioniert.

Zur Vermeidung elektrischer Feldüberhöhungen sind die Elektroden an ihren Konturen nach Anspruch 11 abgerundet. Die elektrische Feldstär-

- 7 -

ke darf wegen der Gefahr der Streamerbildung 1 000 kV/cm nicht überschreiten, weil dabei starke, empfindlich störende chemische Zersetzung in der Maische auftritt.

Lebensmittelgesetzlich besteht bei der Einrichtung die Vorgabe, wie sie in Anspruch 12 durch die Art des Baumaterials für den Strömungskanal ausgedrückt ist, nämlich der Strömungskanal und die darin eingebauten Elektroden zumindest an ihrer von der Maische berührten Oberfläche sind mit einem für Lebensmittel geeigneten, für den Prozess inerten Material bedeckt oder bestehen daraus. Als dielektrisches Material eignet sich beispielsweise PE und als Elektrodenmaterial erfüllt beispielsweise Edelstahl die Anforderungen.

Der Massendurchsatz pro Zeit, die Durchsatzrate, bestimmt die Größe der lichten Fläche dieser Einrichtung zur Elektroporation und die Strömungsgeschwindigkeit. Dabei soll während des Betriebs keine Verstopfung auftreten. Hindernisse, die solches verursachen können müssen vermieden werden. Auch deswegen sind die Elektrodenkonturen rund.

Die irreversible elektrische Zellporation der Wandzellen von Weinbeeren in der Maische stellt ein Verfahren zur Mostgewinnung dar, bei der die Pflanzenzellen durch das gepulste elektrische Feld schonend geöffnet und die bedeutsamen, wertgebenden Inhaltsstoffe effektiv freigesetzt werden. Vorteil bei der irreversiblen Elektroporation ist die schnelle, insbesondere nicht-thermische Extraktion von Farb-, Gerb-, Aroma- und den weiteren bedeutenden Inhaltsstoffen für den Weinausbau, wie Enzyme, wozu des weiteren auch Stickstoffsubstanzen aus den beerenspezifischen Eiweißen zählen.

Die elektrische Zellporation stellt für die Weinkellereiwirtschaft eine energiesparende, wirtschaftliche Alternative zur Maischegärung, Gärung nach Maischeerhitzung bzw. zu längeren Maischestandzeiten dar. Die Elektroporation von Maische aus Weinbeeren lässt eine Optimierung der Maschinenkapazitäten zu und führt beim Weinausbau schließlich zu einer wenigstens vergleichbaren Weinqualität. Infolge des irreversib-

- 8 -

len und damit effektiven Zellaufschlusses werden auch die für die He-feernährung notwendigen Stickstoffsubstanzen, die beispielsweise durch die heraus gelösten Eiweiße geliefert werden, besser extra-hiert, das trägt zu einer verbesserten Gärung und durch Vermeidung der so genannten UnTypischen Alterungsnote (UTA) zu haltbaren Weinen bei.

Zum Verständnis der verwendeten Prozessparameter ist es notwendig den Mechanismus der irreversiblen elektrischen Zellporation von pflanzli-chen Zellen insbesondere der Zellen in der Beerenhaut genauer zu be-trachten. Die inneren Teile von der biologischen Zelle, wie Zellkern, Zytoplasma etc., sind von außen durch die Zellwand getrennt, die aus einer extrem dünnen Schicht auf der Basis von Fettmolekülen besteht, die auch mit Bilipidschicht bezeichnet wird. Eine wichtige biologi-sche Funktion der Zellwand ist ihre Fähigkeit, durch von der Zelle selbst erzeugte elektrische Potentiale Ionenkanäle zu generieren. Die natürlichen elektrischen Potentiale liegen in der Regel unterhalb bei ca. 70 mV. Durch äußere elektrische Felder kann das Potential künst-lich erzeugt und soweit angehoben, so dass sich die Zellwandöffnung irreversibel ausweitet. Dabei ist das Potential durch die Multiplika-tion des effektiven Weges der Feldlinie in der Zelle mal dem Betrag der Feldstärke bestimmt. Beträgt zum Beispiel die Feldstärke am Ort der Zelle 10kV/cm und hat die Zelle am Ort der Feldlinie einen Durch-messer von 10 µm, errechnet sich das Potential zu 10 Volt. In der Li-teratur (siehe z. B.: K. H. Schoenbach et al., "Bacterial Decontami-nation of Liquids with Pulsed Electric Fields", Transactions on Die-lectrics and Electrical Insulation, Vol 7 No. 5, p. 637-654, October 2000) werden dazu folgende Werte angegeben: In Fällen von langen Pul-sen, hier Pulsen im msec-Bereich, müssen die Potentiale in der Grö-ßenordnung von 1 Volt sein. Für kürzere Pulse, Pulse im µsec-Bereich, müssen die Potentiale an den Zellmembranen auf Werte bis 10 Volt an-gehoben werden.

Untersuchungen und Modelle zum Mechanismus der Zellporation werden an Bakterien schon länger durchgeführt. Ein wesentliches Ergebnis dieser



- 9 -

Untersuchungen betrifft die Dynamik der Zellporation. Während sich nach Anlegen eines elektrischen Feldes die Polarisierungseffekte der im Zytoplasma enthaltenden Salze auf einer 100 ns Skala vollziehen, benötigt die Dynamik der irreversiblen Öffnung der Poren in der Zellmembran eine Größenordnung mehr Zeit. Die Analysen zeigen, dass die Irreversibilität nur dann eintritt, wenn die Poren sich unnatürlich weit geöffnet haben. Dazu ist eine Zeitspanne von etwa 1 bis 3 Mikrosekunden vonnöten, und das Zellporationspotential muss 10 Volt betragen. Das bedeutet für die Beerenhaut von Weinbeeren mit einem mittleren Zelldurchmesser von 7  $\mu\text{m}$ , dass zur Erzielung eines Potentials von mindestens 10 V pro Zelle elektrische Feldstärken von mindestens 14 kV/cm erforderlich sind. Untersuchungen zeigen aber, dass die Poration der Zellen aus der Beerenhaut bei diesen Feldstärken nicht vollständig und das Ausfließen des Farbstoffes (Anthocyans) auch nach 24 Stunden noch nicht abgeschlossen ist. Zur sicheren Elektroporation wird deshalb mit einem Elektroporationspotential von mindestens 100 V gearbeitet, was elektrische Feldstärken von mindestens 140 kV/cm erfordert, die aber nur lokal in einer inhomogenen Feldkonfiguration zu erreichen sind.

Zur Durchführung des Verfahrens ist es entscheidend, dass die Energie zur elektrischen Zellporation auf gepulstem Wege zugeführt wird. Für Weintraubenmaische beträgt die Leitfähigkeit der Suspension um 0,26 S/m. Würde man zum Beispiel an einen mit Weintraubenmaische gefüllten, würfelförmigen dielektrischen Trog der Seitenlänge 10 cm, in dem zwei gegenüberliegende Seiten Elektroden sind, ein elektrisches Feld in Höhe von 10 kV/cm anlegen, dann würde ein Strom von ca. 20 kA fließen, der zu einer Leistungsaufnahme von ca. 2 000 MW führt. Das entspricht der Leistungsabgabe von einem Kraftwerk. Es ist deshalb unrealistisch die Zellporation mit Methoden von geschalteten Gleich- und Wechselstrom durchführen zu wollen. Es ist vielmehr das Regime von Hochleistungspulsanlagen, gepulst solche Leistungsspitzen zu erzeugen.

- 10 -

Die Dynamik der Porenöffnung ist stark temperaturabhängig. Die Ursache liegt in den thermischen Schwankungen der Lipidmoleküle in der Bilipidschicht der Zellmembrane/-haut. Unter der Wirkung der Temperatur bilden sich statistisch Poren mit einem Durchmesser von ca. 1 nm, die sich schnell wieder verschließen. Entscheidend ist, dass während der Dauer des Pulses ein oder mehrere Poren vorhanden sind, die dann unter der Wirkung des hinreichend hohen elektrischen Feldes irreversibel weit geöffnet werden. Je kälter das Prozessiergut ist, desto intensiver muss in Bezug auf Feldstärke und Energie die Zellporation durchgeführt werden. In Zahlen bedeutet das, dass die Werte der Energiedosis einen Faktor 2 höher sein müssten, wenn die Temperatur der Maische unter 10 °C liegt. Analog dazu dürfen die Werte der Energiedosis einen Faktor 2 geringer gewählt werden, wenn die Temperatur der Maische 30 bis 40°C beträgt.

Im folgenden wird die irreversible Elektroporation näher erläutert.

Es zeigt:

Fig. 1 zeitlichen Verlauf des Gerbstoffauszugs;

Fig. 2 zeitlichen Verlauf des Farbstoffauszugs;

Fig. 3 Aromastoffe von Rieslingwein nach Zellporation  
der Maische;

Fig. 4 sich gegenüberstehende Elektroden;

Fig. 5 koaxiale, sich gegenüberstehende Elektroden;

Fig. 6 stabförmige Elektrodenanordnung;.

Fig. 7 inhomogenen Potentiallinienverlauf zwischen zwei  
stabförmigen Elektroden.

Die Rotweimbereitung:

Die Spätburgundermaische wird bei Raumtemperatur mittels einer Lebensmittelpumpe über ein Rohrleitungssystem durch eine Reaktorordnung mit inhomogenem Feld gepumpt (s. Fig. 6). Die Förderleistung ist 1000 l/h und die Wiederholfrequenz der 300 kV Pulse beträgt 10 Hz was einer die spezifische Energie von 20 kJ/kg Maische entspricht. Alternativ in einem Reaktor mit annähernd homogenem elektrischem Feld (wie

- 11 -

in den Fig. 4 und 5 dargestellt) wird hier die Temperatur der roten Maische auf 30 bis 40 °C angehoben werden. Als Kontrolle dient die Maischeerhitzung als herkömmliche Art des Aufschlusses. Es zeigt sich, dass die zeitliche Entwicklung des Extraktionsvorgangs bei der elektrischen Zellporation vergleichbar der thermischen Denaturierung ist. In Fig.1 und 2 ist die zeitliche Entwicklung von Gerbstoff und Farbintensität von roter Maische nach einer irreversiblen elektrischen Zellporation dargestellt. Das Extraktionsverhalten ist vergleichbar mit der Maischeerhitzung, nämlich dass innerhalb der ersten zwei bis drei Stunden der hauptsächlich Gerbstoff- und Farbauszug stattfindet, nur mit dem Unterschied dass hier die Maische bei Raumtemperatur zellporiert wurde.

Wie sich aus Tabelle 1 ergibt, liegt der durch Zellporation gewonnene Rotmost in seinem Gerbstoff- und Säuregehalt nur geringfügig niedriger als der durch Maischeerhitzung erhaltene. Das kann aber durch Variation Parameter beeinflusst werden. In beiden Fällen wird anschließend abgepresst, vorgeklärt und vergoren. Der fertige Wein entspricht in seinen analytischen Eckdaten besonders auch den Farb- und Gerbstoffwerten der Kontrolle.

Bei der Blindverkostung durch 48 fachkundige Personen der Weinkellerei erwiesen sich beide Varianten als gleichrangig: 23-mal wurde die elektrische Zellporation auf Rang 1 gesetzt, 25-mal die Kontrolle. Bei der Bewertung nach dem 5-Punkteschema der deutschen Weinverordnung erreichte der mittels irreversibler elektrischer Zellporation bereitete Rotwein im Mittel die Qualitätszahl 2,15, die Kontrolle 2,17, n = 42 Ereignisse, was auch hier als ununterscheidbar gewertet werden muss. Das Beispiel zeigt, dass die elektrische Zellporation zumindest vergleichbare Ergebnisse wie die Maischeerhitzung liefert.

Der Weißwein:

Die Elektroporation liefert eine gute Ausgangsbasis beim Ausbau von Weißwein, wie das folgende Beispiel zeigt: Das Riesling-Lesegut wurde abgebeert, gemaischt und anschließend sowohl bei ausgeschalteter (zur

- 12 -

Kontrolle) als auch eingeschalteter elektrischer Zellporation durch die Anlage gepumpt. Die mechanische Belastung der Maische war somit gleich, und etwaige Unterschiede allein der zusätzlichen Wirkung der elektrischen Felder zuzuschreiben. Als weiterer Vergleich wurde das gleiche Lesegut mittels Ganztraubenpressung, GTP, verarbeitet.

Bei den gewonnenen Rohmosten zeigte die GTP erwartungsgemäß den niedrigsten Trubgehalt. Die elektrisch zellporierte Variante weist höhere Trubgehalte auf. Das ist hauptsächlich auf die Pumpbelastung zurückzuführen.

Bei den durch Sedimentation vorgeklärten Mosten sind die Unterschiede im Trubgehalt nur noch gering, auffallend bei der elektrisch zellporierten Variante sind hier zum einen wiederum die niedrigeren Säurewerte, zum anderen aber die hier höheren Gehalte an Gerbstoff und hefeverfügbarem Stickstoff (ferm-N-Wert). Das sind Vorteile im Hinblick auf die Vermeidung der Untypischen Alterungsnote, UTA.

Beim ausgebauten Wein der elektroporierten Variante findet sich ein höherer Gerbstoffgehalt sowie ein erhöhter zuckerfreier Extrakt. Der deutlich erhöhte Kalium-Wert dieser Variante, weist auf einen sehr effektiven Zellaufschluss hin.

Im Weißweinbereich ist die Freisetzung von Aromastoffen oder deren Vorstufen vor allem aus den Beerenhäuten von Interesse. Wie Fig.2 zu entnehmen ist, liefert die GTP die geringsten Gehalte an Terpenen und anderen Aromastoffen. Durch Maischen, hier verbunden mit einem Pumpvorgang, verbessert sich die Freisetzung der Aromen, die zusätzliche Elektroporation erbrachte hier nochmals eine deutliche Steigerung. Die Auslösung von niedermolekularen Stickstoffsubstanzen, Aminosäuren, Ammonium, aus der Zelle wird durch die Elektroporation gefördert - und sie ist erwünscht, da Eiweiße hefeverwertbare Stickstoffträger darstellen, ohne deren ausreichende Mitwirkung Fehlgärung und eine untypische Alterungsnote, UTAN, die Folge sind.

- 13 -

Das Ergebnis einer sensorischen Beurteilung ist:

Ein Prüfer-Panel aus 50 Kellermeistern wertete die Vergleichsvariante der Ganztraubenpressung ab wegen Tendenz zu Untypischer Alterungsnote (vgl. niedrigen ferm N-Wert des Mostes in Tabelle 2), desgleichen die etwas ruppig erscheinende Kontrollvariante, Einmaischen plus 1 Pumpvorgang. Klar bevorzugt und mit signifikantem Vorsprung auf Rang 1 gesetzt wurde dagegen die mittels zusätzlicher Elektroporation aufgeschlossene und entsprechend vollständiger extrahierte Variante. In Tabelle 2 ist das Prüfergebnis im Detail wiedergegeben.

Im Weißweinbereich sind somit Vorteile der Zellporation gegeben sowohl bei der besseren Extraktion der sortenspezifischen Aromen und Aromavorstufen als auch der Vermeidung der Untypischen Alterungsnote (UTAN).

Für Maische aus weißen Beeren ist ein starker Zellaufschluss wie bei der roten Maische nicht erwünscht, da die damit verbundene Gerbstoffauslösung den Charakter des Weißweines verändert/beeinflusst. Elektrische Feldstärke und spezifische Energie können zurückgenommen werden. In den Abbildungen 4 und 5 sind Reaktorkonzepte mit größerem Fließquerschnitt und einem Feldverlauf mit geringerer elektrischer Feldstärke dargestellt, der sich über ein größeres Volumen erstreckt. In Fig.5 sind die Elektroden axialsymmetrisch und in Fig.4 radial angeordnet. Mit dieser Elektrodenkonfiguration lassen sich großvolumige, im Feldachsenbereich annähernd homogene elektrische Felder erzeugen. In beiden Fällen wird die Inhomogenität des elektrischen Feldes zugunsten eines homogenen Feldes über einen größeren Volumenbereich durch Wahl flächiger Elektroden und großer Krümmungsradien in den Elektrodenformen reduziert. Die mittlere elektrische Feldstärke beträgt in beiden Fällen bei 300 kV Pulsen ca. 60 kV/cm in der Amplitude.

In allen Reaktorkonzepten sind mindestens zwei Elektroden in die dielektrische Rohrleitung eingebaut, um die strömende Maische mindestens einmal mit hoher Feldstärke im Strömungsvolumen zu bepulsen. Die O-

- 14 -

berfläche der in den Strömungskanal ragenden, blanken Elektrodenflächen dient zur Steuerung/Begrenzung des Stromes zwischen den Elektroden, wobei die elektrolytische Last der Einrichtung zur irreversiblen Elektroporation der Impedanz des angeschlossenen Hochspannungspulsgenerators zumindest in etwa angepasst ist. Vorteilhafterweise ist die Last im Vergleich zur Impedanz des Generators größer, so fließen höhere Ströme durch die Maische. Die Ströme bewirken in der Maische lokal die zur Zellporation notwendigen elektrischen Felder. Allerdings belasten höhere Ströme z.B. 20 kA die Lebensdauer der verwendeten Hochspannungspulsgeneratoren.

In der Fig. 6 ist eine Reaktorversion zur irreversiblen Elektroporation von roter Maische dargestellt. Sie besteht aus einer dielektrischen Rohrleitung, dem Strömungskanal für die Maische, mit rundem oder polygonalem, mindestens viereckigem Querschnitt, die eine Fläche entsprechend ca. 4 cm<sup>2</sup> aufweist, in deren Wand mindestens ein im Abstand von 6 cm versetztes Elektrodenpaar eingelassen ist, dessen beide Elektroden bündig, in den Strömungskanal ragend, eingebaut sind, und die Elektrodenstäbe Krümmungsradien im Bereich  $r = 6$  mm aufweisen. Die elektrische Feldachse schneidet hier die Strömungsachse schräg. In der Figur 7 sind die elektrischen Potentiallinien zwischen zwei das elektrische Feld bildende Stabelektroden eingezeichnet, welche die starke, ausgeprägte Inhomogenität der Elektrodenanordnung aufzeigen. In der Ausführung von Figur 6 erreicht die Feldstärke im unmittelbaren Bereich der Elektrode bei 300 kV Pulsamplitude eine elektrische Feldstärke bis 230 kV/cm. Lokal sind in der Umgebung der Elektroden die gewünschten Elektroporationspotentiale von  $\geq 100$  V zu erreichen.

Allen drei Elektrodenkonfigurationen liegt hinsichtlich ihrer im Strömungskanal exponierten Fläche die folgende, dimensionierungswichtige Elektrodenfläche zugrunde:

Figur 4: Die drei Elektrodenpaare aus ebenfalls nicht rostendem Stahl sind radial angeordnet. Die scheibenartigen Elektroden haben einen Durchmesser von 40 mm und weisen eine Krümmungsradius von 10 mm auf.

- 15 -

Die Separation der Elektroden ist 50 mm und es stellen sich bei einem 300 kV Puls, je nach Lage, Feldstärken im von 45 bis 80 kV/cm in der Pulsamplitude ein. Der Querschnitt des Fließkanals ist zur Vermeidung von parasitären elektrischen Entladungen über die Innenwand oval gestaltet.

Figur 5: Die axialsymmetrischen Elektroden bestehen aus nichtrostendem Stahl, Edelstahl, der Isolierkörper aus Polyethylen. Der Durchmesser des Fließquerschnitts beträgt 50 mm, die Separation der gerundeten Elektroden ca. 70 mm. Der Krümmungsradius der zur Gegenelektrode weisenden, gekrümmten Fläche beträgt 20 mm. Die maximal auftretende Feldstärke bei einem 300 kV Puls übersteigt 50 kV/cm nicht.

Figur 6: Der Strömungskanal hat einen Durchmesser von 20 mm. Die Elektroden aus Edelstahl sind zur Realisierung der Hochspannungsfestigkeit um 60 mm versetzt angeordnet und bilden elektrische Felder nach beiden Richtungen. Ausnahme sind die Randelektroden, die geerdet sind und nur ein Feld zu dem auf Hochspannung stehenden Nachbar ausbilden. In Fig. 6 sind es Felder von 6 Elektrodenpaaren, die aus 7 Elektroden gebildet werden. Die Elektroden ragen jeweils halbkugelig mit einem Krümmungsradius von 6 mm in den Kanal hinein. Die Feldstärke bei einem 300 kV Puls variiert zwischen 40 und 230 kV/cm am Scheitelwert.

Die drei Dimensionierungsbeispiele sind beispielhaft.

Die Elektroden der Einrichtung zur irreversiblen Elektroporation sind an den Ausgang eines Hochspannungsimpulsgenerators, der elektrischen Energiequelle, angeschlossen. Die im Strömungskanal aufeinanderfolgenden / aneinandergereihten Elektroden liegen abwechselnd auf einem Bezugspotential, meist Erdpotential, und am Hochspannungsausgang des zugehörigen Hochspannungspulsgenerators. Im Falle einer geradzahligen Elektrodenanzahl hat man wenigstens ein Elektrodenpaar oder aneinandergereihte Elektrodenpaare. Im Falle einer ungeradzahligen Elektrodenanzahl wird die erste und letzte Elektrode aus Schutzgründen vorteilhafterweise an das Bezugspotential angeschlossen. Kommt eine Einrichtung, wie in Fig. 4 mit radialer Elektrodenanordnung gezeigt, zum

- 16 -

Einsatz, sind bipolare Ausgangspulse des Pulsgenerators aus isolationsstechnischem Aufwand zweckmäßig. Zwischen beiden felderzeugenden Elektroden stellt sich das Bezugspotential selbsttätig ein.

Als Generator zur Erzeugung von Hochspannungspulsen im Mikrosekunden bis Submikrosekundenbereich mit einer Amplitude von 300 bis 500 kV und Anstiegszeiten im 100 ns-Bereich, bei Stromstärken unterhalb 10 kA und Pulslängen um eine Mikrosekunde bietet sich der Marxgenerator bzw. ein als LC-Kettenleiter ausgebildeter Marxgenerator an. Typischer-/beispielsweise besteht ein in diesem Anwendungsgebiet eingesetzter Marxgenerator aus 6 Stufen. Über ein Hochspannungsnetzgerät werden die einzelnen Stufen/Kondensatoren, die eine Einzelkapazität von 140 nF aufweisen auf 50 kV aufgeladen. Beim Entladen/Durchzünden entsteht dann der Hochspannungspuls mit einer Amplitude von  $6 \times 50 \text{ kV} = 300 \text{ kV}$  und einer aperiodischen Pulslänge von ca.  $1,5 \mu\text{s}$  für eine angepasste ohmsche Last von ca. 20 Ohm. Im einfachsten Fall, bei beispielsweise nur einem Marxgenerator, werden die Schalter/Funkenstrecken im Marxgenerator im Selbstdurchbruch betrieben. Beim Schalten mehrerer Marxgeneratoren in einer Anlage müssen Triggereinrichtungen für das gezielte Zünden der Funkenstrecken verwendet werden.

Um den aperiodischen Grenzfall im Reaktor zu erreichen muss die Fläche der Elektroden einen Wert haben, der sich für einen planaren elektrolytischen Widerstand nach der Formel  $\frac{1}{R} = \frac{L \cdot F}{d}$  berechnet. Wird beispielsweise für den Generatorwiderstand  $R = 20 \Omega$  und für die elektrolytische Leitfähigkeit  $L$  den Wert für die Maische von 0,26 S/m eingesetzt, dann errechnet sich als Anhalt bei einem Abstand  $d = 0,06 \text{ m}$  die Fläche zu  $0,01 \text{ m}^2$ . Das entspricht einem Quadrat von  $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ . Diese Fläche gevierteilt, führt auf vier Elektrodenpaare mit einer Elektrodenfläche von je  $25 \text{ cm}^2$ . Tatsächlich muss die Fläche kleiner angesetzt werden, da an den inhomogenen Randfeldern stets höhere Ströme fließen.



Tab.1: Zellporation zur Rotweinbereitung (Spätburgunder Rotwein)

	Most (vorgeklärt)					Wein										
	Mostgewicht (°Oe)	Schleu- dertrub (%)	Gerbstoffe (g/l)	Gesamtsäure (g/l)	pH-Wert	Alkohol (g/l)	Gesamtex- trakt (g/l)	zfr. Ex- trakt (g/l)	Gesamtsäure (g/l)	pH-Wert	freie SO <sub>2</sub> (mg/l)	gesamte SO <sub>2</sub> (mg/l)	Gerbstoffe (mg/l)	Farbinten- sität	Farbnuance	Rangziffer
Kon- trol- le (ME)	96,5	1,21	2,8	8,3	3,5	98,5	25,1	23,8	4,7	3,7	48	131	2,1	2,4 7	0,9 5	2,1 7
Zell- pora- tion	96,0	1,37	2,3	6,9	3,5	104,2	24,7	23,2	4,1	3,7	51	121	2,0	2,3 3	1,0 2	2,1 5

Tab.2: Zellporation zur Weißweinbereitung (Riesling)

	Most (vorgeklärt)					Wein									
	Mostge- wicht (°Oe)	Gesamt- säure (g/l)	Schleu- dertrub (%)	Gerbstoffe (g/l)	ferm N-Wert	Alkohol (g/l)	Gesamtex- trakt (g/l)	zfr. Ex- trakt (g/l)	Gesamtsäu- re (g/l)	pH-Wert	freie SO <sub>2</sub> (mg/l)	gesamte SO <sub>2</sub> (mg/l)	Gerbstoffe (g/l)	Kalium (mg/l)	Rangziffer
Vergleich (GTP)	82	11,1	0,80	0,2 2	25	99,0	21,5	18,2	6,7	3,1	44	85	0,2 6	498	2,3
Kontrolle (nur ge- pumpt)	77	9,2	0,97	0,3 3	32	96,2	19,4	19,3	6,7	3,1	43	83	0,3 3	585	2,5
Zellpora- tion (gepumpt)	79	8,6	0,80	0,5 7	37	98,9	20,6	20,5	6,8	3,2	41	92	0,3 8	776	1,3

**Patentansprüche:****1. Verfahren zur besseren und schonenden Freisetzung wertgebender Inhaltsstoffe aus Weintrauben:**

bestehend aus den Verfahrensschritten:

- eine aus roten und/oder weißen Weintrauben gewonnene Maische wird auf einer Temperatur gehalten/gebracht, die oberhalb des Gefrierens der Maische liegt und bis zu bei der herkömmlichen Maischeerwärmung bekannten Temperaturen eingestellt wird,
- die Maische wird vor dem Pressvorgang zur Mostgewinnung durch eine Anlage/einen Anlagenteil gepumpt/geströmt und dort mit gepulsten elektrischen Feldern zur irreversiblen Öffnung der Zellwände der biologischen Zellen der Weinbeerenhaut beaufschlagt, die Elektroporation, deren Pulsdauer im Bereich von 0,5 - 3  $\mu$ s liegt,
- die Maische erfährt bei der Elektroporation pulsartig so hohe Feldstärken, dass einerseits die Potentialdifferenz an den 7 bis 10  $\mu$ m großen Zellen der Beerenhaut mindestens 100 Volt beträgt und andererseits die Grenze zur Streamerbildung, die bei etwa 1 000 kV/cm liegt, nicht erreicht wird,
- die spezifische Energiedosis für elektrische Zellporation wird bei einer Temperatur der Maische ab 10°C bis etwa 40°C zwischen 10 und 40 kJ pro Kilogramm Maische eingestellt, unterhalb etwa 10°C um einen Faktor 2 bis 4 darüber und oberhalb etwa 40°C um einen Faktor 2 geringer eingestellt wird.

- 20 -

- die Maische erfährt nach der Elektroporation eine vorgegebene Standzeit zur Freisetzung der wertgebenden Inhaltsstoffe aus der Fruchtschale in die Maische und diese Freisetzung wird durch mindestens eine Probennahme aus der Maische mitverfolgt
  - die Maische wird im Anschluss an die Standzeit einem Pressvorgang zur Gewinnung des Mostes ausgesetzt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Maische aus Weißweinträumen nach der Elektroporation eine Standzeit von Minuten bis mehrere Stunden erfährt.
  3. Verfahren nach den Ansprüchen 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Maische aus Rotweinträumen nach der Elektroporation eine Standzeit von etwa 1 Stunde bis mehrere Tage erfährt.
  4. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 und 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Maische zur Mostgewinnung höchstens einem Pressdruck wie bei der herkömmlichen Mostgewinnung ausgesetzt wird.
  5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Maische kontinuierlich oder schubweise durch die Anlage/den Anlagenteil zur Elektroporation gefahren wird.
  6. Most aus Weintrauben und aus diesem Most erzeugter Wein, dadurch gekennzeichnet, dass die Maische zur Gewinnung dieses Mostes und Weins zumindest teilweise den Verfahrensschritt der Elektroporation nach einem der Ansprüche 1 bis 5 durchlaufen hat.
  7. Einrichtung zur Durchführung der Elektroporation einer Maische aus Weintrauben, dadurch gekennzeichnet, dass
    - die Anlage/der Anlagenteil zur Elektroporation aus einer dielektrischen Rohrleitung, dem Strömungskanal für die Maische, mit einfach rundem oder einfach polygonalem, mindestens jedoch

- 21 -

viereckigem Querschnitt besteht, in dessen Wand mindestens zwei, zueinander auf Abstand stehende Elektroden zur Bildung eines pulsformigen, elektrischen Feldes zwischen ihnen einge-  
lassen ist,

- die Elektroden versenkt oder bündig oder in den Strömungskanal ragend eingebaut sind,
  - die gesamte Oberfläche der in den Strömungskanal ragenden blanken Elektrodenflächen zur Steuerung/Begrenzung des Stromes zwischen den Elektroden dient,  
wobei der lichte Querschnitt und die Länge des Strömungskanals der Einrichtung so ausgelegt ist, dass die Maische als elektrolytische Last der Einrichtung einen elektrischen Widerstand hat, der höchstens so groß wie die Impedanz eines an die Einrichtung angeschlossenen Hochspannungsimpulsgenerators ist.
8. Einrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Elektroden einander zur Strömungsachse schräg dazu/versetzt oder einander zur Strömungsachse paarweise senkrecht gegenüberstehen und im Fall mehr als zwei Elektroden dieselben zur Strömungsachse ausgerichtet oder darum verdreht im Abstand strömungsaxial aufeinander folgen.
9. Einrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Elektroden ringförmig sind und coaxial zur Strömungsachse aufeinander folgen.
10. Einrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Elektroden stiftförmig sind und sich entlang zur Strömungsachse unter Abstandswahrung ausgerichtet oder darum verdreht aneinanderreihen.

- 22 -

11. Einrichtung nach einem der Ansprüche 8 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die in den Strömungskanal exponierte Stirn der jeweiligen Elektrode an ihrer Kontur derart abgerundet ist, dass bei pulsförmiger Felderzeugung an allen Konturbereichen der Elektrode sich stets höchstens eine elektrische Feldstärke von 1 000 kV/cm ausbilden kann und für die durchströmende Maische die exponierte Elektrodengeometrie nicht als Stauinitiierung wirkt.
12. Einrichtung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass der Strömungskanal und die darin eingebauten Elektroden zumindest an ihrer von der Maische berührten Oberfläche mit einem lebensmittelgeeigneten, für den Prozess inerten Material bedeckt sind oder daraus bestehen.

1/7

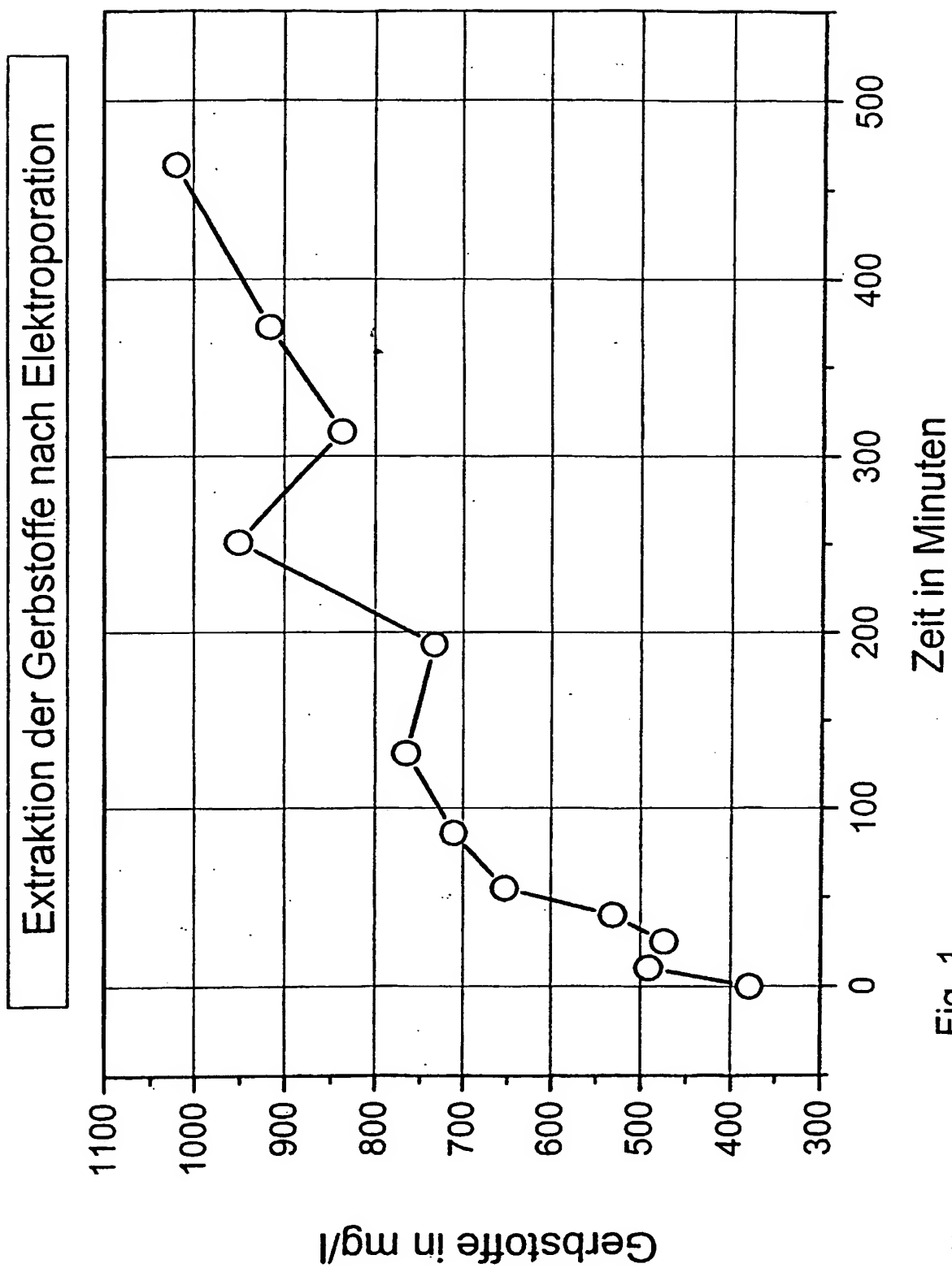
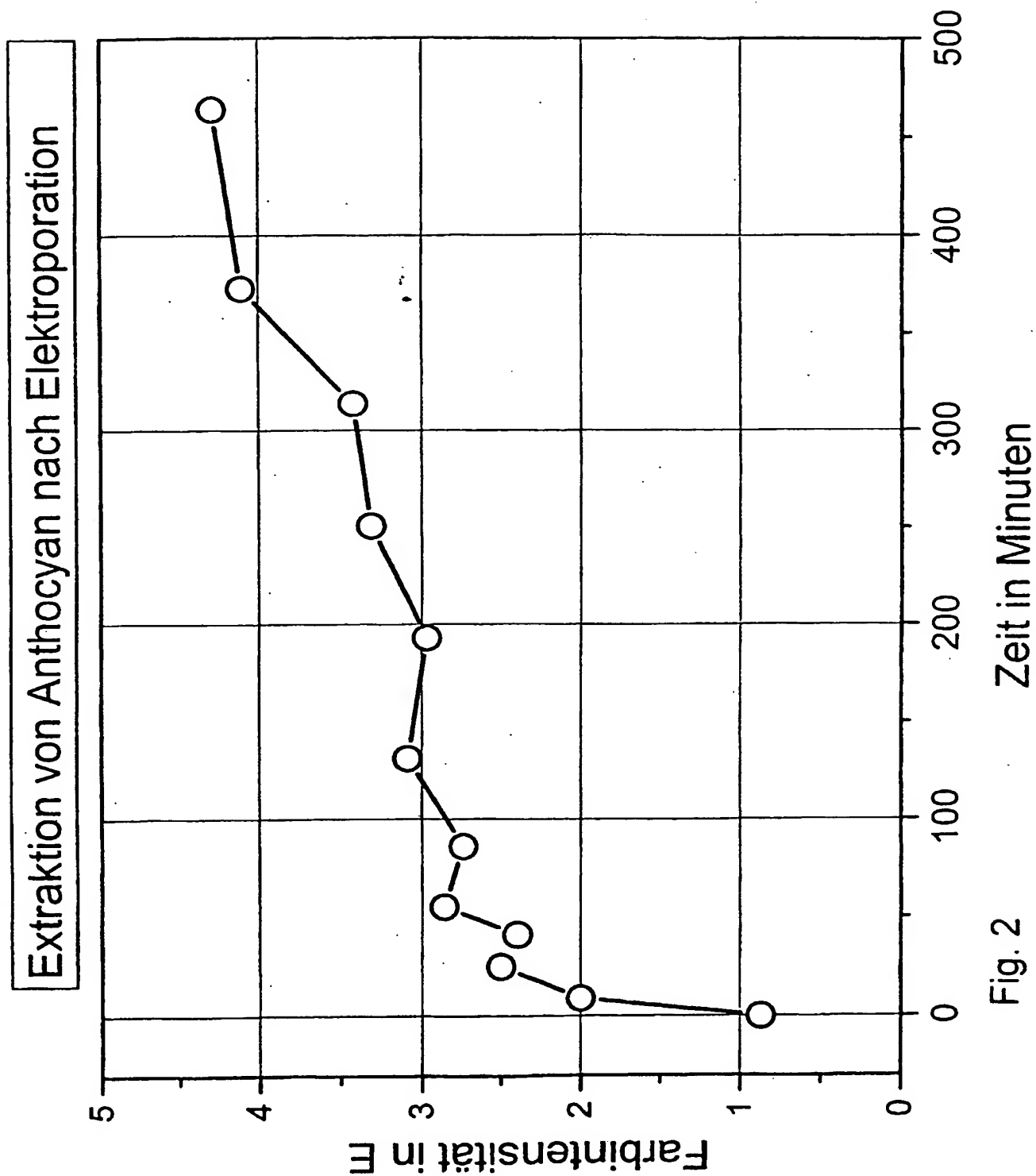


Fig. 1

2/7





3/7

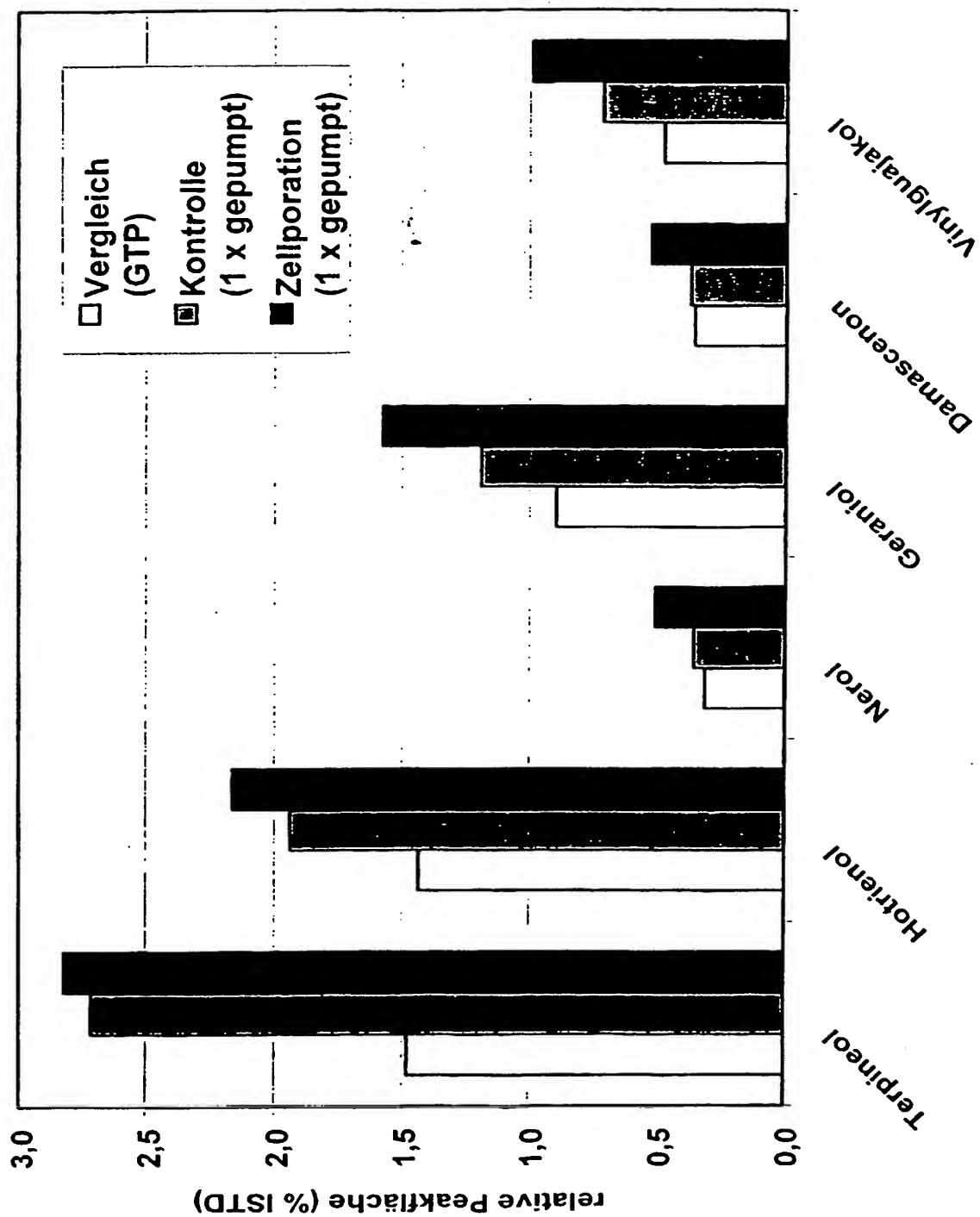


Fig. 3

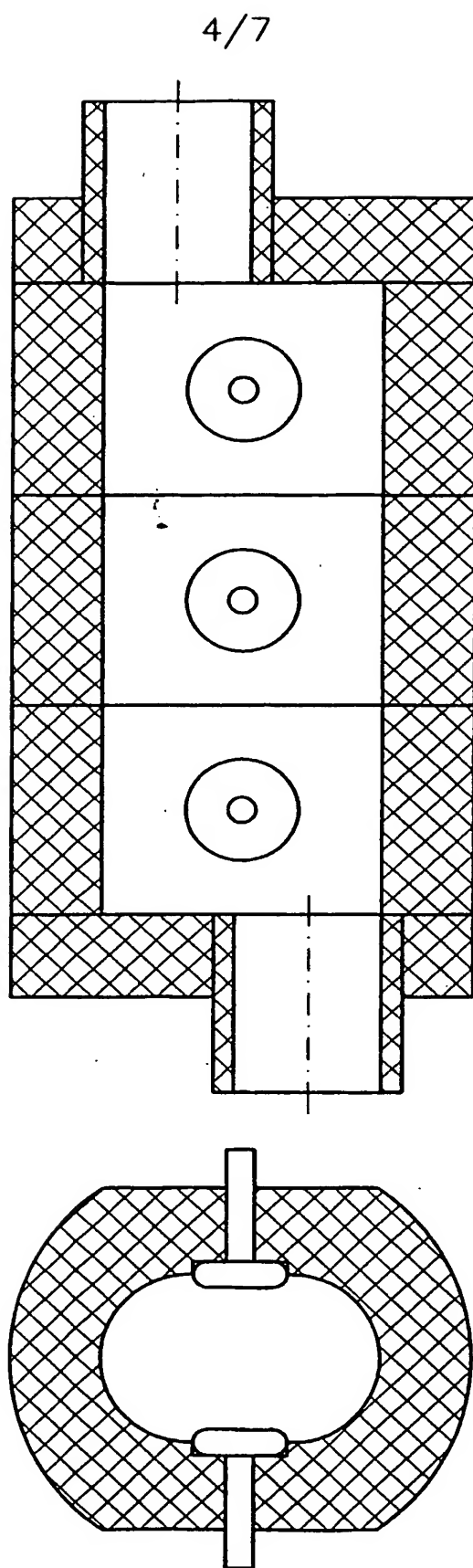


Fig. 4

5/7

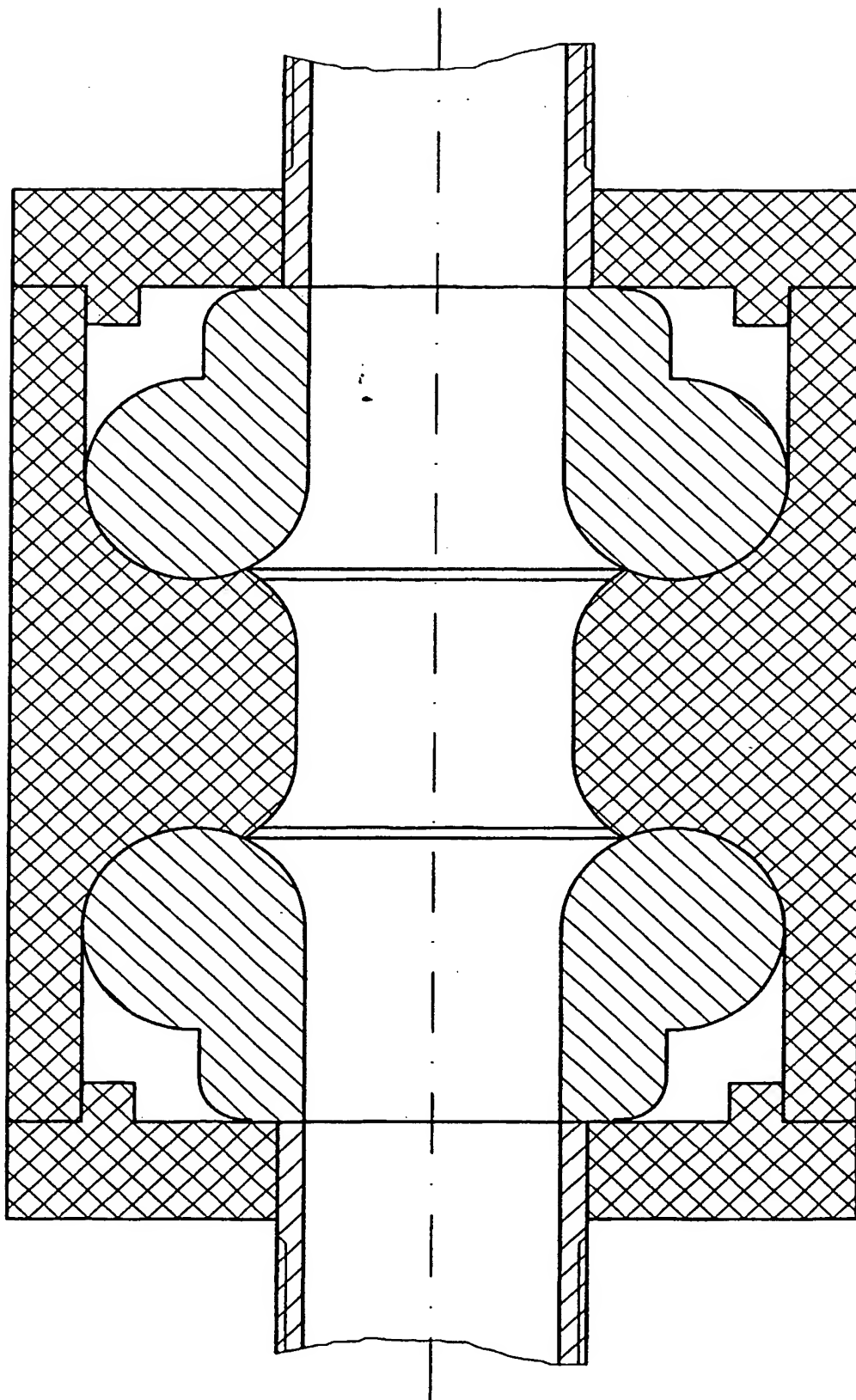
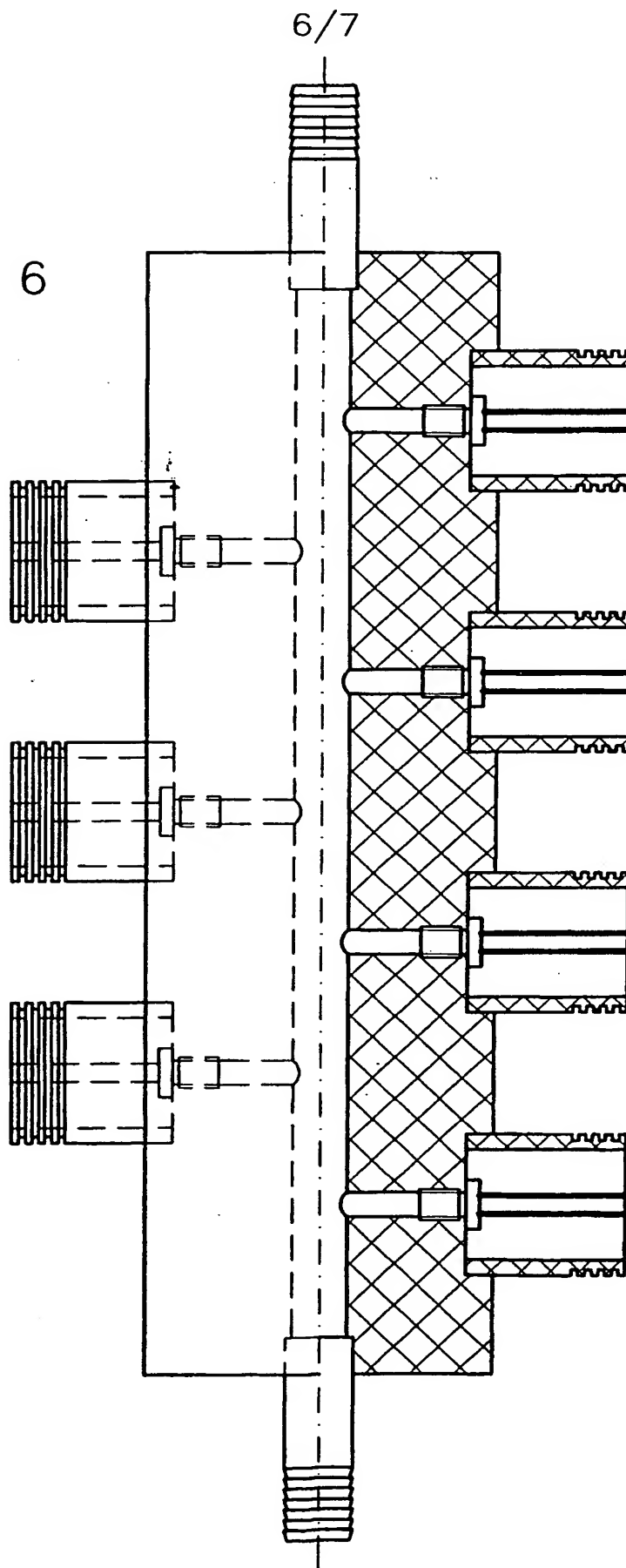


Fig. 5

Fig. 6



7/7

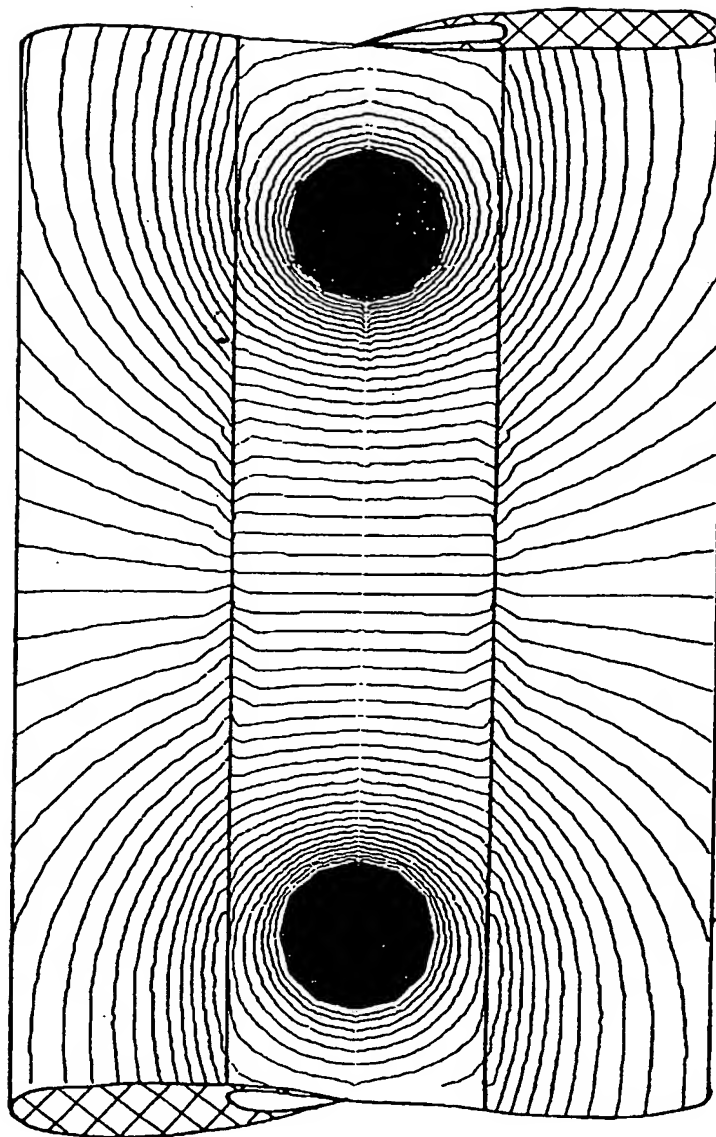


Fig. 7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/002282

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12G1/02 A23N1/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C12G A23N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, BIOSIS, COMPENDEX

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/070026 A (DSM IP ASSETS B.V; STARK, JACOBUS; DUTREUX, NICOLE, LILIANE) 28 August 2003 (2003-08-28) page 3, line 13 - page 4, line 5; example 3	7-12
A	page 6, lines 12-18	1-6
X	EP 0 728 189 A (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE) 28 August 1996 (1996-08-28)	6
A	page 2, line 29 - page 3, line 25	1-5
X	FR 2 826 665 A (BRUNET) 3 January 2003 (2003-01-03)	6
A	abstract	1-5
	----- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 May 2005

Date of mailing of the international search report

06/06/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, J

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/002282

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>TEDJO W. ET AL: "Einsatz nicht-thermischer Verfahren zur Zell-Permeabilisierung von Weintrauben und Gewinnung von Inhaltsstoffen" FLÜSSIGES OBST, vol. 69, no. 9, 2002, pages 578-583, XP008047184 page 579, column 1, paragraphs 5,9 page 579, column 2, paragraph 1 -----</p>	1-12
A	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 199329 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D16, AN 1993-234314 XP002328605 &amp; SU 1 751 188 A1 (AS UKR ELECTROHYDRAULIC DES BUR) 30 July 1992 (1992-07-30) abstract -----</p>	1-12
A	<p>GB 570 866 A (CHARLES REID) 26 July 1945 (1945-07-26) page 10, column 1, lines 48-56; claims 1,2 -----</p>	1-12
A	<p>US 2003/073238 A1 (DZEKUNOV SERGEY M ET AL) 17 April 2003 (2003-04-17) abstract; claim 56 paragraph '0193! -----</p>	7-12
A	<p>DE 101 44 479 A1 (FORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE GMBH; KEA-TEC GMBH) 27 March 2003 (2003-03-27) claims; figures -----</p>	7-12

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/002282

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03070026	A	28-08-2003	AU 2003210351 A1 BR 0307583 A WO 03070026 A1 EP 1478247 A1	09-09-2003 01-02-2005 28-08-2003 24-11-2004
EP 0728189	A	28-08-1996	FR 2712147 A1 AU 8147794 A CA 2175916 A1 DE 69407990 D1 DE 69407990 T2 EP 0728189 A1 GR 3026477 T3 AT 162213 T ES 2112035 T3 WO 9513360 A1	19-05-1995 29-05-1995 18-05-1995 19-02-1998 18-06-1998 28-08-1996 30-06-1998 15-01-1998 16-03-1998 18-05-1995
FR 2826665	A	03-01-2003	FR 2826665 A1	03-01-2003
SU 1751188	A1	30-07-1992	NONE	
GB 570866	A	26-07-1945	NONE	
US 2003073238	A1	17-04-2003	US 2004197883 A1 CA 2459697 A1 EP 1456345 A2 WO 03018751 A2	07-10-2004 06-03-2003 15-09-2004 06-03-2003
DE 10144479	A1	27-03-2003	CA 2460569 A1 WO 03022080 A1 EP 1424910 A1 HU 0401095 A2 MD 20040079 A	20-03-2003 20-03-2003 09-06-2004 28-09-2004 31-08-2004



A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 C12G1/02 A23N1/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 C12G A23N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, BIOSIS, COMPENDEX

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 03/070026 A (DSM IP ASSETS B.V; STARK, JACOBUS; DUTREUX, NICOLE, LILIANE) 28. August 2003 (2003-08-28) Seite 3, Zeile 13 - Seite 4, Zeile 5; Beispiel 3	7-12
A	Seite 6, Zeilen 12-18	1-6
X	EP 0 728 189 A (INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE) 28. August 1996 (1996-08-28)	6
A	Seite 2, Zeile 29 - Seite 3, Zeile 25	1-5
X	FR 2 826 665 A (BRUNET) 3. Januar 2003 (2003-01-03)	6
A	Zusammenfassung	1-5
	----- -/-	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,

eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*g\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

19. Mai 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06/06/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, J

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>TEDJO W. ET AL: "Einsatz nicht-thermischer Verfahren zur Zell-Permeabilisierung von Weintrauben und Gewinnung von Inhaltsstoffen"</p> <p>FLÜSSIGES OBST,</p> <p>Bd. 69, Nr. 9, 2002, Seiten 578-583,</p> <p>XP008047184</p> <p>Seite 579, Spalte 1, Absätze 5,9</p> <p>Seite 579, Spalte 2, Absatz 1</p>	1-12
A	<p>DATABASE WPI</p> <p>Section Ch, Week 199329</p> <p>Derwent Publications Ltd., London, GB;</p> <p>Class D16, AN 1993-234314</p> <p>XP002328605</p> <p>&amp; SU 1 751 188 A1 (AS UKR ELECTROHYDRAULIC DES BUR) 30. Juli 1992 (1992-07-30)</p> <p>Zusammenfassung</p>	1-12
A	<p>GB 570 866 A (CHARLES REID)</p> <p>26. Juli 1945 (1945-07-26)</p> <p>Seite 10, Spalte 1, Zeilen 48-56;</p> <p>Ansprüche 1,2</p>	1-12
A	<p>US 2003/073238 A1 (DZEKUNOV SERGEY M ET AL) 17. April 2003 (2003-04-17)</p> <p>Zusammenfassung; Anspruch 56</p> <p>Absatz '0193!</p>	7-12
A	<p>DE 101 44 479 A1 (FORSCHUNGSZENTRUM KARLSRUHE GMBH; KEA-TEC GMBH)</p> <p>27. März 2003 (2003-03-27)</p> <p>Ansprüche; Abbildungen</p>	7-12

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP2005/002282

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 03070026	A	28-08-2003	AU 2003210351 A1	09-09-2003
			BR 0307583 A	01-02-2005
			WO 03070026 A1	28-08-2003
			EP 1478247 A1	24-11-2004
EP 0728189	A	28-08-1996	FR 2712147 A1	19-05-1995
			AU 8147794 A	29-05-1995
			CA 2175916 A1	18-05-1995
			DE 69407990 D1	19-02-1998
			DE 69407990 T2	18-06-1998
			EP 0728189 A1	28-08-1996
			GR 3026477 T3	30-06-1998
			AT 162213 T	15-01-1998
			ES 2112035 T3	16-03-1998
			WO 9513360 A1	18-05-1995
FR 2826665	A	03-01-2003	FR 2826665 A1	03-01-2003
SU 1751188	A1	30-07-1992	KEINE	
GB 570866	A	26-07-1945	KEINE	
US 2003073238	A1	17-04-2003	US 2004197883 A1	07-10-2004
			CA 2459697 A1	06-03-2003
			EP 1456345 A2	15-09-2004
			WO 03018751 A2	06-03-2003
DE 10144479	A1	27-03-2003	CA 2460569 A1	20-03-2003
			WO 03022080 A1	20-03-2003
			EP 1424910 A1	09-06-2004
			HU 0401095 A2	28-09-2004
			MD 20040079 A	31-08-2004